

产品信息

细胞凋亡检测试剂盒提供了一种快速简便的方法，通过标记早期凋亡细胞和晚期凋亡细胞或坏死细胞，用于检测细胞凋亡水平。产品可以使用流式细胞仪或其它荧光检测设备进行检测。

产品成分

组分	50 T	100 T
1× Annexin V结合缓冲液	50 mL	100 mL
CL647-Annexin V	250 uL	500 uL
PI	500 uL	1 mL

包装规格

50 T/100 T

保存条件

4℃避光冷藏，请勿冻存。本产品推荐条件下至少可以储存12个月。

使用方法

下列实验方案以利用星形孢菌素诱导 Jurkat 细胞凋亡为例，如果使用其他诱导剂和其他类型的细胞，实验条件需要略作调整。

一、流式细胞检测

- 根据实验要求诱导细胞凋亡。检测样品中应包含未经处理的细胞样品，作为阴性对照。此外，设定一组样品做单染，用于调节补偿。
- 收集细胞。悬浮细胞：300 g，4℃离心5 min 收集细胞；贴壁细胞：用不含EDTA的胰酶消化后300 g，4℃离心收集细胞，胰酶消化时间不宜过长，以防引起假阳性。
注：用胰蛋白酶消化后，将细胞在最佳细胞培养条件和培养基中恢复约30 min，然后再染色。胰蛋白酶消化会暂时破坏质膜，允许 Annexin V 结合磷脂酰丝氨酸在细胞膜的细胞质表面上，从而导致假阳性染色。
- 用预冷的PBS洗涤细胞两次，每次均在300 g，4℃下离心5 min，收集 $1 \cdot 5 \times 10^5$ 个细胞并用100 uL 1×结合缓冲液重悬细胞。
- 每管加入4-5 uL的CL647-Annexin V和5 uL的PI工作液。
- 室温避光孵育10-15 min，为避免细胞凋亡进程，孵育过程可在冰上操作。
- 每管加入400 uL的PBS或1×结合缓冲液，尽快通过流式细胞仪检测细胞凋亡情况。CL647-Annexin V由637 nm激光激发，检测荧光发射光谱在667 nm处（APC通道），PI通道发射光谱约在617 nm处。
注：PBS或1×结合缓冲液的选择根据不同凋亡处理以及不同细胞具体选择。

二、荧光显微镜检测

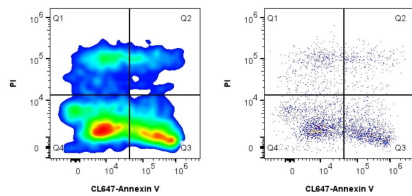
对于悬浮细胞，可参照流式细胞检测的方法进行具体操作。

- 在盖玻片或载玻片小室中接种细胞。
- 根据实验要求诱导细胞凋亡。检测样品中应包含未经处理的细胞样品，作为阴性对照。
- 用PBS洗涤细胞。
- 每100 uL的1×Annexin V结合缓冲液中加入5 uL的CL647-Annexin V和5 uL的PI。
- 向培养板中加入足量的染液以覆盖全部细胞，室温避光孵育15-30 min。为避免细胞凋亡进程，孵育过程可在冰上操作，但孵育时间至少延长至30 min。
- 用1×结合缓冲液清洗细胞。
- 将孵育有细胞的盖玻片置于载玻片上，载玻片可提前加一滴1×结合缓冲液；对于培养在小室内的细胞，可直接加入足量的1×结合缓冲液覆盖细胞。
- 使用合适的滤光片观察细胞。CL647-Annexin V可用APC适用的滤光片，PI可用Cy3或者Texas适用的滤光片。

注意事项

- 荧光染料均存在淬灭问题，保存和使用过程中请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
- PI是一种核酸特异性红光染料，具有致癌性。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 为确保结果准确，细胞在染色后须尽快完成检测。

Validation Data



Q1: (CL647-Annexin V)-/PI+, 此区域的细胞为坏死细胞。也可能有少数的晚期凋亡细胞在其中, 甚至机械损伤的细胞也包含其中。**Q2:** (CL647-Annexin V)+/PI+, 此区域的细胞为晚期凋亡细胞。**Q3:** (CL647-Annexin V)+/PI-, 此区域的细胞为早期凋亡细胞。**Q4:** (CL647-Annexin V)-/PI-, 此区域的细胞为活细胞。通常统计细胞凋亡率时采用Q2+Q3, 晚期凋亡+早期凋亡群(即所有Annexin V阳性群)。

For technical support and original validation data for this product please contact

T: 027-87531629

E: Proteintech-CN@ptglab.com

W: ptgcn.com

This product is exclusively available under Proteintech Group brand and is not available to purchase from any other manufacturer.